



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA TUTELA DELLA PROPRIETÀ INDUSTRIALE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

UIBM

DOMANDA NUMERO	101983900003007
Data Deposito	09/03/1983
Data Pubblicazione	09/09/1984

Titolo

NUOVI COMPOSTI AD ATTIVITA' ANTIVIRALE, PROCEDIMENTO PER LA LORO
PREPARAZIONE E COMPOSIZIONI FARMACEUTICHE CHE LI CONTENGONO

BUGNION S.p.A.

DESCRIZIONE

annessa a domanda di brevetto per INVENZIONE INDUSTRIALE
dal titolo:

"COMPOSTI AD ATTIVITA' ANTIVIRALE, PROCEDIMENTO
PER LA LORO PREPARAZIONE E COMPOSIZIONI FARMACEUTICHE
CHE LI CONTENGONO"

Richiedente: MAGIS FARMACEUTICI S.r.l., Società di na-
zionalità italiana, con sede a BRESCIA

Mandatari : Ing. Giuseppe RIGHETTI, Ing. Franco ZORZOLI,
Ing. Carlo Raoul GHIONI della BUGNION S.p.A., Via C. Fa-

rini, 81 - MILANO - 9 MAR. 1983
Depositata il

Al No.:

1998 1A/83

RIASSUNTO

Facendo reagire alcuni derivati della purina o il 2-amino-5-bromo-6-metil-4-pirimidinolo, opzionalmente opportunamente protetti, con un opportuno agente esterificante, quale il difenilfosforilcloruro, l'ossicloruro di fosforo, il fosfonoformil cloruro o il fosfonocetil cloruro e, opzionalmente, salificando, si ottengono composti dotati di attività antivirale, che sono particolarmente utili quali principi attivi di composizioni farmaceutiche.

DESCRIZIONE

Formano oggetto della presente invenzione nuovi composti ad attività antivirale, il procedimento per la loro preparazione e le composizioni farmaceutiche che li

BUGNION S.p.A.

contengono.

Più particolarmente, formano oggetto della presente invenzione i nuovi composti caratterizzati dal fatto che sono i composti aventi formula (I)



in cui R rappresenta il 2'-ossi residuo della 9-(2'-idrossietossimetil)guanina, l'ossi residuo del 2-amino-5-bromo-6-metil-4-pirimidinolo, il 5'-ossi residuo della 9- β -D-arabinofuranosiladenosina o il 5'-ossi residuo della inosina, X è il residuo CO o CH₂CO ed n è 0 o 1, o i loro sali farmaceuticamente accettabili, con la condizione che quando n è 0, R è soltanto il 2'-ossi residuo della 9-(2'-idrossietossimetil)guanina o l'ossi residuo del 2-amino-5-bromo-6-metil-4-pirimidinolo.

La tabella riassuntiva seguente riporta, per ogni gruppo rappresentato da R, la corrispondente formula di struttura, nonché la sigla per brevità da qui in poi assegnata ai corrispondenti composti di formula (I).

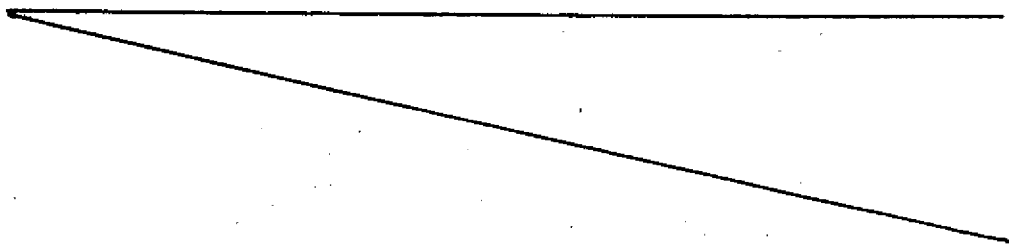
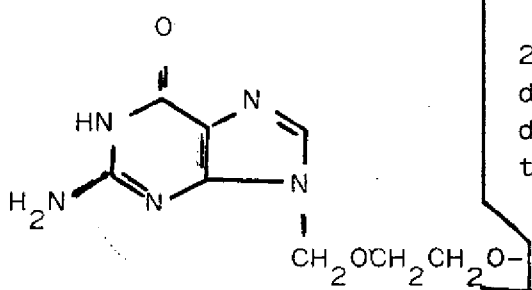
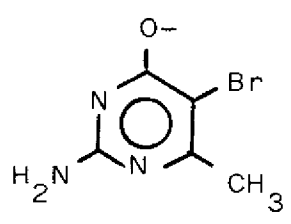
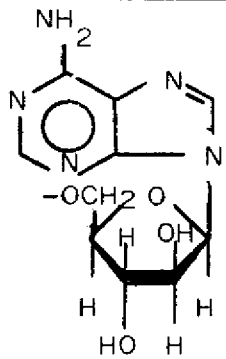
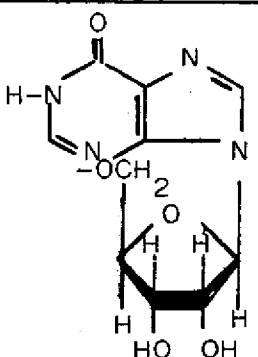


Tabella riassuntiva

Formula del residuo rappresentato da R-	Residuo rappre- sentato da R	n	X	Sigla asse- gnata al corrispon- dente compo- sto di for- mula (I)
	2'-ossi residuo della 9-(2'- <u>i</u> drossietossime- til)guanina	0		AV/001A
		1	CO	AV/001C
			CH ₂ CO	AV/001B
	ossi residuo del 2-amino-5-bromo- 6-metil-4-piri- midinolo	0		AV/002C
		1	CO	AV/002A
			CH ₂ CO	AV/002B
	5'-ossi residuo della 9- β -D- arabinofurano- siladenosina	1	CO	AV/003C
			CH ₂ CO	AV/003B
	5'-ossi residuo della inosina	1	CO	AV/004C
			CH ₂ CO	AV/004B

BUGNION S.p.A.

Sono sali farmaceuticamente accettabili i sali organici ed inorganici non tossici, quali ad esempio i sali con cationi di sodio, di potassio, di calcio, di magnesio, di ammonio, di di- e tri-alchilammine, di dibenzilamina, di procaina, di betaina, di colina, di carnitina, di N,N-dibenzilamina, di glucamina, di N-metilglucamina, di esametilentetramina, di arginina, di lisina, di prolina e di 2-amino-1-butanolo.

I nuovi composti che formano oggetto della presente invenzione sono dotati di attività antivirale; formano pertanto ulteriore oggetto della presente invenzione le composizioni farmaceutiche caratterizzate dal fatto che contengono come principio attivo una quantità terapeuticamente efficace di uno o più composti aventi formula (I), o loro sali farmaceuticamente accettabili, tal quali o in unione con veicolanti, diluenti, solventi e/o eccipienti farmaceuticamente accettabili.

Forma infine oggetto della presente invenzione il procedimento di preparazione dei nuovi composti aventi formula (I), e dei loro sali farmaceuticamente accettabili, caratterizzato dal fatto che opzionalmente si protegge il gruppo aminico dei composti aventi formula (II)

RH (II),

in cui R è come sopra definito, mediante formazione

dell' α -picolinil derivato, si proteggono i gruppi alcolici in 2' e 3' eventualmente presenti in detti composti RH mediante formazione dell'isopropilidenderivato, si fanno reagire detti composti RH, così protetti, con opportuno agente esterificante, si rimuovono le protezioni mediante idrolisi e, opzionalmente, si salifica il composto di formula (I) ottenuto.

I composti aventi formula RH sono composti noti, dotati di attività antivirale; è stato ora sorprendentemente trovato che i nuovi composti che formano oggetto della presente invenzione presentano una attività antivirale significativamente più elevata; inoltre, segnatamente sotto forma di sali, possono essere somministrati per via iniettabile.

Le caratteristiche bio-tossicologiche dei nuovi composti che formano oggetto della presente invenzione sono state valutate con particolare riferimento alla tossicità acuta, alla tollerabilità locale ed alla attività antivirale sia nei confronti dell'Herpes simplex sia nei confronti del virus dell'influenza A e B.

La tossicità acuta dei nuovi composti che formano oggetto della presente invenzione è stata indagata in diverse specie di animali per somministrazione orale (os) secondo il metodo di Litchfield e Wilcoxon (J. Pharm. Exp. Ther. 96, 99, 113 - 1949). I risultati ottenuti

sono raccolti nella Tabella I.

Tabella I

Composto saggiato	Specie animale	Via di sommi- nistratura	LD ₅₀ (mg/Kg)
AV/001A	topo	os	> 10000
	ratto	os	> 9000
	cavia	os	> 8000
AV/001B	topo	os	> 10000
	ratto	os	> 7000
	cavia	os	> 7000
AV/001C	topo	os	> 8000
	ratto	os	> 7000
	cavia	os	> 7000
AV/002A	topo	os	> 5000
	ratto	os	> 5000
	cavia	os	> 4000
AV/002B	topo	os	> 4000
	ratto	os	> 4000
	cavia	os	> 3000
AV/002C	topo	os	> 4000
	ratto	os	> 4000
	cavia	os	> 3000
AV/003B	topo	os	> 8000
	ratto	os	> 8000
	cavia	os	> 7000
AV/003C	topo	os	> 8000
	ratto	os	> 7000
	cavia	os	> 7000

(segue Tabella I)

AV/004B	topo	os	> 7000
	ratto	os	> 7000
	cavia	os	> 7000
AV/004C	topo	os	> 8000
	ratto	os	> 8000
	cavia	os	> 8000

Per quanto concerne la tollerabilità locale, i nuovi composti (200-600 mg/Kg al giorno miscelati nella dieta) sono risultati ben tollerati dalla mucosa gastrica ed enterica di ratto e gatto trattati per 180 giorni consecutivi, in quanto non sono state messe in evidenza alterazioni istologiche trofiche e/o vascolari. Anche nella forma iniettabile (20-30 mg/Kg) i nuovi composti, somministrati sotto forma di sali, sono stati ben tollerati e non hanno causato alcuna necrosi nei tessuti nel situ dell'iniezione. I risultati ottenuti sui cani denotano che i nuovi composti somministrati per via orale alla dose di 200, 400 e 600 mg/Kg non determinano variazioni apprezzabili della pressione arteriosa, della frequenza cardiaca e del tracciato elettrocardiografico.

L'attività antivirale dei nuovi composti è stata studiata in vitro su coltura di fibroblasti della cute dell'orecchio di coniglio (B289) e su coltura di cel-

BUGNION S.p.A.

lule renali di scimmia (1° espianto) nei confronti del virus Herpes simplex tipo I (isolato nell'uomo) che aveva precedentemente subito 6 passaggi in coltura cellulare. Il titolo del virus era di $10^{7,1}$ per le cellule della cute e di $10^{6,3}$ per le cellule renali.

Sono state sperimentate concentrazioni dei nuovi composti comprese fra 10 e 500 mcg/ml; ogni diluizione dei nuovi composti è stata aggiunta in 8 tubi di cellule infettate da 1 ora con DCT50 di virus Herpes simplex tenuti a 37°C.

La moltiplicazione virale è stata seguita quotidianamente per 5 giorni. I dati ottenuti dimostrano che una singola somministrazione dei nuovi composti determina una buona riduzione della moltiplicazione del virus Herpes simplex, valutata sia al 4° giorno sul liquido soprastante delle colture cellulari sia al 5° giorno sul liquido sovranatante e sulle cellule congelate e scongelate.

Gli effetti migliori si sono avuti al 4° giorno con concentrazioni dei nuovi composti di 25 mcg/ml. I nuovi composti per somministrazioni ripetute per 5 giorni determinano una notevole riduzione della moltiplicazione del virus Herpes simplex al 5° giorno di trattamento; i risultati migliori si sono avuti

con concentrazioni dei nuovi composti da 50 a 100 mcg/ml.

Tutti i risultati ottenuti sono superiori rispetto a quelli ottenuti con i corrispondenti composti RH saggiati in quantità equimolecolari.

Per valutare gli effetti sul virus Herpes simplex "in vivo", sono stati utilizzati conigli maschi New Zealand White del peso di circa 3,2 Kg. Dopo infezione nella cornea mediante scarificazione, gli animali sono stati trattati per via orale (mediante bevuta spontanea di bibbitina) con dosi da 50 mg/Kg a 200 mg/Kg dei nuovi composti. Il trattamento venne iniziato da 2 a 24 ore dopo l'inoculo. I nuovi composti, somministrati per via orale, antagonizzano la mortalità da virus Herpes simplex maggiormente quando il trattamento con i nuovi composti è iniziato 2 ore dopo l'inoculo. L'azione dei nuovi composti è superiore a quella dei corrispondenti composti RH somministrati in quantità equimolecolari.

L'attività antivirale dei nuovi composti nei confronti del virus influenza A e B è stata studiata in vitro su colture di cellule H e LH con la tecnica dell'emoassorbimento. Sono stati utilizzati virus dai seguenti ceppi: Ar, Hong Kong, B. Maryland. Sono state sperimentate concentrazioni dei nuovi composti comprese fra

20 e 100 mcg/ml; i risultati dimostrano che i nuovi composti hanno una attività antivirale nei confronti del virus dell'influenza dei ceppi A e B significativamente superiore a quella dei corrispondenti composti di formula RH saggiati in dosi equimolecolari.

Tutte le sopradescritte caratteristiche e proprietà dei nuovi composti che formano oggetto della presente invenzione li rendono particolarmente utili come principi attivi di composizioni farmaceutiche; formano pertanto ulteriore oggetto della presente invenzione le composizioni farmaceutiche caratterizzate dal fatto che contengono come principio attivo una quantità terapeuticamente efficace di uno o più composti aventi formula (I), o loro sali farmaceuticamente accettabili, tal quali o in unione con veicolanti, diluenti, solventi e/o eccipienti farmaceuticamente accettabili.

Dette composizioni farmaceutiche possono essere formulate in modo da essere somministrabili per via orale, rettale, topica o iniettabile; esse possono presentarsi sia in forma solida, come ad esempio capsule, compresse, con rilascio sia normale sia ritardato e progressivo del principio attivo, polveri e granulati, entrambi anche in bustine monodosi, supposte, creme, gel o pomate, sia in forma liquida, come ad esempio sospensioni o soluzioni, già pronte o estemporanee,

per uso orale ed oftalmico, e, sterili, per uso iniettabile. I nuovi composti possono essere somministrati in quantità variabile da 5 a 20 mg/Kg al giorno, preferibilmente da 6 a 15 mg/Kg al giorno.

Essi possono essere somministrati nelle forme orali, ad esempio, in unità posologiche che contengono 50 mg, 100 mg, 200 mg, 400 mg, 500 mg di principio attivo con adatti veicolanti ed eccipienti farmaceuticamente accettabili; nelle forme iniettabili, ad esempio, in unità posologiche contenenti 25 mg, 50 mg, 100 mg, 200 mg, 250 mg di principio attivo con adatti veicolanti ed eccipienti farmaceuticamente accettabili; nelle forme per uso topico in pomate, gel o creme al 3% di principio attivo e, nelle forme oftalmiche, all'1%, 2% o 3% di principio attivo.

Tutte le composizioni farmaceutiche sopradescritte possono essere preparate utilizzando le metodologie ben note al tecnico dell'arte ed eventualmente impiegando veicolanti, diluenti, solventi e/o eccipienti ben noti al tecnico dell'arte; ampiamente esauriente a questo proposito è il testo "Tecnologia Farmaceutica" S. Casadio, Ed. Cisalpino Goliardica, Milano, 1972.

I nuovi composti che formano oggetto della presente invenzione possono essere ottenuti, ed anche ciò forma oggetto della presente invenzione, opzionalmente proteg

gendo il gruppo amminico dei composti aventi formula RH (II), in cui R è come sopra definito, mediante formazione dell' α -picolinilderivato, proteggendo i gruppi alcoolici in 2' e 3' eventualmente presenti in detti composti RH mediante formazione dell'isopropiliden derivato, facendo reagire detti composti RH, così protetti, con opportuno agente esterificante, rimuovendo le protezioni mediante idrolisi e, opzionalmente, salificando il composto di formula (I) ottenuto.

Per la preparazione dei nuovi composti aventi formula (I) in cui n è 0, detto opportuno agente esterificante è il difenilfosforilcloruro o l'ossicloruro di fosforo; la reazione viene in questo caso utilmente condotta in piridina anidra e, sempre in questo caso, non è necessario proteggere il gruppo amminico.

Per la preparazione dei nuovi composti aventi formula (I) in cui n è 1 ed X è CO o CH₂CO, detto opportuno agente esterificante è il cloruro dell'acido fosfonofor_{mico} o dell'acido fosfonoacetico, rispettivamente.

L'eliminazione per idrolisi del gruppo protettore α -picolinico può essere vantaggiosamente effettuata, in condizioni blande, in presenza di ioni rameici; l'isopropilidenderivato viene idrolizzato in ambiente acido, ad esempio con soluzione diluita di acido cloridrico a circa 40°C.

Il composto di formula (I) ottenuto viene purificato ed isolato con le metodologie ben note al tecnico dell'arte, quali lavaggi e installazioni con opportuni solventi quali ad esempio l'etanolo o l'acetone.

I sali farmaceuticamente accettabili possono essere ottenuti a partire dai composti aventi formula (I) con i metodi usuali ben noti al tecnico dell'arte, ad esempio aggiungendo la base desiderata ad una soluzione del composto di formula (I) ed eliminando il solvente per liofilizzazione o disciogliendo il composto di formula (I) in una soluzione della base desiderata ed eliminando il solvente per liofilizzazione.

Gli esempi seguenti illustrano alcune forme di realizzazione della presente invenzione, senza tuttavia limitarla in alcun modo.

ESEMPIO N. 1 - 9-(2-fosfonoossietossi metil) guanina
(AV/001A).

In un pallone da 500 ml equipaggiato di agitatore, vengono trasferiti 150 ml di palline di vetro, 150 ml di piridina anidra, 28,8 g difenilfosforil cloruro puro e 22,5 g di 9-(2-idrossimetil)guanina. La miscela viene agitata per due ore a temperatura ambiente. Alla fine di questo tempo si aggiungono 150 ml di acqua, si filtra e si evapora a secchezza con l'aiuto del vuoto fino ad ottenere un residuo sciropposo. Que-

sto residuo viene disciolto in 450 ml di acqua e, dopo l'addizione di 140 g di idrato di bario e 0,5 ml di alcool etilico, la miscela viene riscaldata a riflusso per 60 minuti. Si raffredda la soluzione e si fa gorgogliare una forte corrente di anidride carbonica finchè la soluzione diventa neutra alla fenoftaleina. La soluzione viene filtrata ed il solido viene lavato sul filtro con tre porzioni di 50 ml di acqua.

I filtrati combinati vengono estratti con 400 ml di etere, per rimuovere il fenolo, e la soluzione acquosa viene evaporata sotto ridotta pressione. Il residuo viene ripreso con 150 ml di acqua e la soluzione viene diluita con un eguale volume di etanolo e lasciata stare per un'ora.

Il precipitato voluminoso, contenente soprattutto impurezze, viene separato per filtrazione; il solido viene lavato con piccole porzioni di alcool etilico al 50% (100 ml in totale). Si riuniscono le acque madri e a questa soluzione si aggiungono, sotto blanda agitazione e lentamente, 600 ml di alcool etilico al 99%. Il bario che precipita viene filtrato su Buchner e quindi lavato con alcool etilico al 99% ed etere anidro. Il sale si essicca e si pesa.

Il sale di bario essiccato viene sciolto in 50 ml di acqua e si aggiunge lentamente acido solforico diluito

in quantità stechiometriche al bario presente nel sale ottenuto. Si lascia per un'ora a 10°C e quindi si filtra. Il filtrato si evapora con l'aiuto del vuoto. Il residuo si riprende con alcool assoluto, si filtra e si secca. Si ottengono circa 21 g del prodotto desiderato. Le analisi spettroscopiche ne confermano la struttura.

Analisi elementare	C	H	N	P
- Calcolato	31,48%	3,96%	22,94%	10,147%
- Trovato	32%	3,98%	22,85%	10,13%

P.M. 305,19

ESEMPIO N. 2 - Fosfonoacetil cloruro.

14 g di acido fosfonoacetico si trasferiscono in un pallone fornito di refrigerante a ricadere unitamente a 100 ml di cloroformio. Si aggiungono 11,89 g di cloruro di tionile e si riscalda a ricadere per un'ora. Quindi si evapora a secchezza con l'aiuto del vuoto. Il prodotto che si ottiene si usa tal quale nella successiva sintesi.

ESEMPIO N. 3 - Fosfonoformil cloruro.

Si opera come descritto nell'Esempio N. 2, ma utilizzando 12,8 g di acido fosfonoformico in luogo dell'acido fosfonoacetico.

ESEMPIO N. 4 - 2-(α -picolinil)amino-1,9-diidro-1-

(α -picolinil)-9- [(2'-idrossietossi)

metil] -6H-purina-6-one.

2,25 g di 9-(2-idrossietossimetil)guanina vengono sciolti in 50 ml di tetraidrofurano; si aggiungono 2,05 g di trietilamina e si raffredda a $0 \pm 5^{\circ}\text{C}$. Lentamente, sotto agitazione ed in circa 60 minuti, si aggiungono 2,58 g di cloruro dell'acido α -picolinico. Si agita per un'ora facendo alzare la temperatura a $25 \pm 30^{\circ}\text{C}$. Si filtra la soluzione e con l'aiuto del vuoto si evapora il solvente. Il residuo si riprende con 50 ml di acqua, si acidifica fino a pH 2,0 e si aggiungono 50 ml di acetato di etile. Si agita energicamente, si lasciano separare le fasi. La fase organica si anidrifica con solfato di sodio anidro e quindi si evapora. Si ottengono 2,89 g del prodotto desiderato.

Le analisi spettroscopiche ne confermano la struttura.

Analisi elementare	C	H	N
- Calcolato	55,42%	3,488%	22,62%
- Trovato	55,5%	3,5%	22,5%

P.M. 433,39

ESEMPIO N. 5 - 9-(2-fosfonoacetossietossimetil)guanina (AV/001B).

4,33 g del composto ottenuto operando come descritto nell'Esempio N. 4 vengono sciolti in 30 ml di piridina. Si aggiungono 1,59 g di fosfonoacetil cloruro. Si lascia per 12 ore a temperatura ambiente, quindi si eva-

pora con l'aiuto del vuoto la piridina. Si aggiungono 50 ml di acqua, 2,5 g di acetato di rame e 4 ml di acido cloridrico all'8%. La miscela si lascia stare sotto agitazione a temperatura ambiente per due ore. Si filtra, si riduce a piccolo volume e si eliminano gli ioni rameici con idrogeno solforato. Si filtra, si porta a piccolo volume e si aggiunge etanolo assoluto. Il precipitato si filtra e si cristallizza ripetutamente con etanolo. Si ottengono 2,1 g di prodotto; le analisi strumentali ne confermano la struttura.

Analisi elementare	C	H	N	P
- Calcolato	33,61%	6,77%	19,6%	8,66%
- Trovato	34%	6,8%	19,1%	8,6%

P.M. 347,31

ESEMPIO N. 6 - 9-(2-fosfonoformilossietossimetil) guanina (AV/001C).

Si opera come descritto nell'Esempio N. 5, ma utilizzando 1,45 g di fosfonoformil cloruro in luogo del fosfonoacetil cloruro.

Si ottengono 2 g del prodotto desiderato. Le analisi strumentali ne confermano la struttura.

Analisi elementare	C	H	N	P
- Calcolato	31,48%	6,46%	20,40%	9,02%
- Trovato	32%	6,6%	20,1%	9,0%

P.M. 333,28

ESEMPIO N. 7 - 2-(α -picolinil)amino-5-bromo-4-idrossi-6-metilpiridina.

2,04 g di 2-amino-5-bromo-4-idrossi-6-metilpiridina vengono trasferiti in 30 ml di acqua fredda contenente disciolti 450 mg di idrato sodico.

Alla soluzione mantenuta fredda si aggiungono, a goccia a goccia, 1,26 g di cloruro dell'acido α -picolinico. Alla fine dell'aggiunta si lascia salire la temperatura a $28 + 30^{\circ}\text{C}$ e quindi si agita per 12 ore. Si filtra il precipitato che si lava con acqua; si ottengono 3 g del prodotto desiderato che si cristallizza da metanolo.

I dati spettrofotometrici ne confermano la struttura.

Analisi elementare	C	H	Br	N
- Calcolato	40,73%	4,60%	26,89%	18,86%
- Trovato	40,9%	4,7%	27%	18,7%

P.M. 297,12

ESEMPIO N. 8 - 2-amino-5-bromo-4-(fosfonoossi)-6-metilpiridina (AV/002A).

2,04 g di 2-amino-5-bromo-4-idrossi-6-metil-piridina vengono sciolti in 20 ml di piridina. Si raffredda a -20°C e, sotto agitazione, si aggiungono lentamente 1,6 g di fosforo ossicloruro sciolto in 10 ml di piridina raffreddata a -20°C . Dopo 30 minuti di agitazione si versa lentamente la soluzione piridinica in

50 ml di soluzione di acido acetico : acqua 1 : 1 pre-raffreddata a -10°C . Si agita per 15 minuti mantenendo sempre la temperatura a -10°C . Si filtra il precipitato e lo si lava con acetone. Si ottengono 3 g del prodotto desiderato. Le analisi spettroscopiche ne confermano la struttura.

Analisi elementare	C	H	Br	N	P
- Calcolato	21,14%	2,48%	28,14%	14,80%	10,90%
- Trovato	21,2%	2,5%	28,1%	14,75%	10,8%
P.M.	284,00				

ESEMPIO N. 9 - 2-amino-5-bromo-4-(fosfonoacetossi)-6-metil-piridina (AV/002B).

Si opera come descritto nell'Esempio N. 5, ma utilizzando 2,97 g del composto ottenuto nell'Esempio N. 7 in luogo del composto ottenuto nell'Esempio N. 4. Si ottengono circa 3 g di prodotto; le analisi spettroscopiche ne confermano la struttura.

Analisi elementare	C	H	Br	N	P
- Calcolato	25,76%	2,78%	24,51%	12,87%	9,50%
- Trovato	26%	2,7%	24,3%	12,7%	9,45%
P.M.	326,04				

ESEMPIO N. 10 - 2-amino-5-bromo-4-(fosfonoformilossi)-6-metil-piridina (AV/002C).

Si opera come descritto nell'Esempio N. 9, ma utilizzando 1,45 g di fosfonoformil cloruro in luogo del fo-

sfonoacetil cloruro. Si ottengono 3 g di prodotto; le analisi spettroscopiche ne confermano la struttura.

Analisi elementare	C	H	Br	N	P
- Calcolato	23,10%	2,26%	25,6%	13,47%	9,93%
- Trovato	23,2%	2,3%	25,7%	13,5%	9,80%

P.M. 312,01

ESEMPIO N. 11 - Acetanide della 9- β -D-arabinofuranosiladenosina.

142 g di acido paratoluensolfonico monoidrato vengono aggiunti, evitando l'introduzione di umidità, in un pallone contenente 20 g di 9- β -D-arabinofuranosiladenosina sospesa in 4 litri di acetone anidro. La soluzione che si ottiene si agita a 25°C per 1 ora. Si raffredda in bagno di ghiaccio la soluzione e si porta fino a pH 7,7 con soluzione fredda di acetone al 10% di ammoniaca. Il sale di ammonio dell'acido paratoluensolfonico si filtra. La soluzione acetonica si riduce sotto vuoto a piccolo volume. Il precipitato che si ottiene si filtra e si asciuga; si sospende in 30 ml di acqua a 80°C circa per 10 minuti. La sospensione si raffredda, si filtra ed il precipitato che si ottiene si asciuga in stufa a 110°C sottovuoto. Si ottengono circa 20 g di acetonide; le analisi spettroscopiche ne confermano la struttura.

Analisi elementare	C	H	N
- Calcolato	50,8%	5,58%	22,79%

BUGNION S.p.A.

- Trovato 50,9% 5,5% 22,8%

P.M. 307,32

ESEMPIO N. 12 - Acetonide 9- β -D-arabinofuranosil-9H-
6-(α -picolinilamino)purina.

3,07 g dell'acetonide preparato come descritto nell'E-
sempio N. 11 vengono sciolti in 50 ml di tetraidrofufu-
rano; si aggiungono 2 g di trietilamina. Si raffredda
a 0 + 5°C e si prosegue come descritto nell'Esempio
N. 4. Si ottengono 3,15 g di prodotto; le analisi spet-
troscopiche ne confermano la struttura.

Analisi elementare	C	H	N
- Calcolato	53,84%	5,27%	20,94%
- Trovato	54%	5,3%	20,8%

P.M. 401,41

ESEMPIO N. 13 - 9- β -D-arabino-(5'-fosfonoacetossi)fu-
ranosil-9H-6-aminopurina (AV/003B).

4,01 g di un composto ottenuto operando come descrit-
to nell'Esempio N. 13 vengono sciolti in 30 ml di pi-
ridina e si aggiungono 1,59 g di fosfonoacetil cloruro.
Si lascia per 12 ore a temperatura ambiente, quindi si
evapora con l'aiuto del vuoto la piridina e si aggiun-
gono 50 ml di acqua, 2,5 g di acetato di rame e 4 ml
di acido cloridrico all'8%. La miscela si lascia sta-
re sotto agitazione per due ore a temperatura ambien-
te e per altre due ore a 40°C. La soluzione viene ri-

dotta a metà volume con l'aiuto del vuoto. Si fa gorgogliare idrogeno solforato per eliminare gli ioni rameici. Si filtra e si porta a secco con l'aiuto del vuoto. Il residuo si cristallizza ripetutamente da etanolo.

Si ottengono 2,5 g di prodotto; le analisi strumentali ne confermano la struttura.

Analisi elementare	C	H	N	P
- Calcolato	35,21%	3,76%	18,67%	8,25%
- Trovato	35,3%	3,78%	18,7%	8,2%

P.M. 389,30

ESEMPIO N. 14 - 9- β -D-arabino-(5-fosfonoformilossi)
furanosil-9H-6-aminopurina (AV/003C).

Si opera come descritto nell'Esempio N. 13, ma utilizzando 1,45 g di fosfonoformil cloruro in luogo del fosfonoacetilcloruro.

Si ottengono 2,4 g di prodotto; le analisi spettroscopiche ne confermano la struttura.

Analisi elementare	C	H	N	P
- Calcolato	37,02%	4,14%	17,99%	7,96%
- Trovato	37,1%	4,2%	18,1%	7,9%

P.M. 375,24

ESEMPIO N. 15 - Acetonide dell'inosina.

Si opera come descritto nell'Esempio N. 11, ma utilizzando 20 g di inosina in luogo della 9- β -D-arabinofu-

ranosiladenosina. Si ottengono 20 g di prodotto; le analisi spettroscopiche ne confermano la struttura.

Analisi elementare	C	H	N
- Calcolato	50,65%	5,25%	18,17%
- Trovato	51,1%	5,26%	18,1%

P.M. 308,3

ESEMPIO N. 16 - (α -picolinil)acetone dell'inosina.

3,08 g di acetone dell'inosina vengono sciolti in 50 ml di tetraidrofurano; si aggiungono 2 g di trietilammina e si prosegue operando come descritto nell'Esempio N. 4. Si ottengono 3,25 g di prodotto; le analisi spettroscopiche ne confermano la struttura.

Analisi elementare	C	H	N
- Calcolato	53,76%	5,01%	17,41%
- Trovato	53,8%	5,1%	17,4%

P.M. 402,4

ESEMPIO N. 17 - (5'-fosfonoacetossi)inosina (AV/004B).

Si opera come descritto nell'Esempio N. 13, ma utilizzando 4,02 g del composto ottenuto operando come descritto nell'Esempio N. 16 in luogo del composto ottenuto operando come descritto nell'Esempio N. 12. Si ottengono 3,01 g di prodotto; le analisi strumentali ne confermano la struttura.

Analisi elementare	C	H	N	P
- Calcolato	35,65%	3,74%	17,13%	7,66%

- Trovato 36% 3,75% 17,1% 7,65%

P.M. 404,26

ESEMPIO N. 18 - (5'-fosfonoformilossi)inosina (AV/004C).

Si opera come descritto nell'Esempio N. 17, ma utilizzando 1,48 g di fosfonoformil cloruro in luogo del fosfonoacetil cloruro. Si ottengono circa 3 g del prodotto desiderato. Le analisi strumentali ne confermano la struttura.

Analisi elementare	C	H	N	P
- Calcolato	33,86%	3,36%	17,95%	7,94%
- Trovato	33,9%	3,4%	17,85%	7,85%

P.M. 390,25

ESEMPIO N. 19 - Sale di lisina della (5'-fosfonoacetossi)inosina.

0,1 moli di (5'-fosfonoacetossi)inosina vengono sciolti in 50 ml di isopropanolo; si aggiungono 0,2 moli di lisina base, si agita e quindi si aggiunge acetone. Il precipitato che si forma si filtra e si asciuga sotto vuoto.

ESEMPIO N. 20 - Sale bisodico della (5'-fosfonoformilossi)inosina.

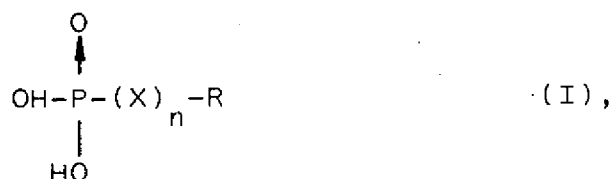
0,1 moli di (5'-fosfonoformilossi)inosina vengono sciolti in 30 ml di acqua contenente 0,2 moli di NaOH. La soluzione si filtra e si liofilizza.

Benchè l'invenzione sia stata descritta in dettaglio

e facendo riferimento a specifiche forme di realizzazione, è evidente al tecnico dell'arte che alcuni cambiamenti e modificazioni possono essere effettuati senza uscire dall'ambito della presente invenzione.

R I V E N D I C A Z I O N I

1) Nuovi composti caratterizzati dal fatto che sono i composti aventi formula (I)



in cui R rappresenta il 2'-ossi residuo della 9-(2-idrossietossimetil)guanina, l'ossi residuo del 2-amino-5-bromo-6-metil-4-pirimidinolo, il 5'-ossi residuo della 9-β-D-arabinofuranosiladenosina o il 5'-ossi residuo della inosina, X è il residuo CO o CH₂CO ed n è 0 o 1, o i loro sali farmaceuticamente accettabili, con la condizione che quando n è 0, R è soltanto il 2'-ossi residuo della 9-(2'-idrossietossimetil)guanina o l'ossi residuo del 2-amino-5-bromo-6-metil-4-pirimidinolo.

2) Nuovo composto secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che R è il 2'-ossi residuo della 9-(2'-idrossietossimetil)guanina ed n è zero.

3) Nuovo composto secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che R è il 2'-ossi residuo della

9-(2'-idrossietossimetil)guanina, n è 1 ed X è CO.

4) Nuovo composto secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che R è il 2'-ossi residuo della 9-(2'-idrossietossimetil)guanina, n è 1 ed X è CH₂CO.

5) Nuovo composto secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che R è l'ossi residuo del 2-amino-5-bromo-6-metil-4-pirimidinolo ed n è zero.

6) Nuovo composto secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che R è l'ossi residuo del 2-amino-5-bromo-6-metil-4-pirimidinolo, n è 1 ed X è CO.

7) Nuovo composto secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che R è l'ossi residuo del 2-amino-5-bromo-6-metil-4-pirimidinolo, n è 1 ed X è CH₂CO.

8) Nuovo composto secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che R è il 5'-ossi residuo della 9-β-D-arabinofuranosiladenosina, n è 1 ed X è CO.

9) Nuovo composto secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che R è il 5'-ossi residuo della 9-β-D-arabinofuranosiladenosina, n è 1 ed X è CH₂CO.

10) Nuovo composto secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che R è il 5'-ossi residuo della inosina, n è 1 ed X è CO.

11) Nuovo composto secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che R è il 5'-ossi residuo della inosina, n è 1 ed X è CH₂CO.

- 12) Nuovo composto secondo una delle precedenti rivendicazioni da 1 a 11, caratterizzato dal fatto che detto sale farmaceuticamente accettabile è il sale con cationi di sodio, potassio, calcio, magnesio, ammonio, di-alchilamine, tri-alchilamine, dibenzilamina, procaina, betaina, colina, carnitina, N,N-dibenzilamina, glucamina, N-metilglucamina, esametilentetramina, arginina, lisina, prolina e 2-amino-1-butanolo.
- 13) Composizione farmaceutica, caratterizzata dal fatto che contiene come principio attivo una quantità terapeuticamente efficace di uno o più composti aventi formula (I), come definiti nella rivendicazione 1, e loro sali farmaceuticamente accettabili, tal quali o in unione con veicolanti, diluenti, solventi e/o eccipienti farmaceuticamente accettabili.
- 14) Composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 13, caratterizzata dal fatto che è formulata come capsula, compressa, sia a rilascio normale sia a rilascio ritardato e progressivo del principio attivo, pomata, unguento, gel, sciroppo o soluzione, anche per uso oftalmico.
- 15) Procedimento di preparazione dei nuovi composti aventi formula (I), come definiti nella rivendicazione 1, e dei loro sali farmaceuticamente accettabili, caratterizzato dal fatto che opzionalmente si protegge il grup-

po aminico dei composti aventi formula (II)

RH (II),

in cui R è come definito nella rivendicazione 1, mediante formazione dell' α -picolinilderivato, si proteggono i gruppi alcolici in 2' e 3' eventualmente presenti in detti composti RH mediante formazione dell'isopropilidenderivato, si fanno reagire detti composti RH, così protetti, con opportuno agente esterificante, si rimuovono le protezioni mediante idrolisi e, opzionalmente, si salifica il composto di formula (I) ottenuto.

16) Procedimento secondo la rivendicazione 15, caratterizzato dal fatto che detto opportuno agente esterificante è il difenilfosforilcloruro, l'ossicloruro di fosforo, il cloruro di fosfonoformile o il cloruro di fosfonoacetile.

17) Procedimento secondo una delle rivendicazioni 15 o 16, caratterizzato dal fatto che l' α -picolinil gruppo viene rimosso per precipitazione del complesso rameico.

18) Procedimento secondo una delle rivendicazioni da 15 a 17, caratterizzato dal fatto che l'isopropiliden derivato viene idrolizzato a 40°C in ambiente acido.

19) Procedimento di preparazione dei nuovi composti di formula (I), come definiti nella rivendicazione 1, e dei loro sali farmaceuticamente accettabili, caratterizzato dal fatto che è sostanzialmente come qui de-

scritto con particolare riferimento agli Esempi dal
N. 1 al N. 20.

20) Composizione farmaceutica contenente come principio attivo uno o più nuovi composti secondo la rivendicazione 1, caratterizzata dal fatto che è sostanzialmente come qui descritta.

p.i. della Ditta MAGIS FARMACEUTICI S.r.l.

IL MANDATARIO

Ing. Franco ZORZOLI

